

004737546

WPI Acc No: 1986-240888/198637

XRAM Acc No: C86-103504

XRPX Acc No: N86-179922

Filter for hepatitis virus removal – comprises bunch of porous hollow thread membranes

Patent Assignee: MITSUBISHI RAYON CO LTD (MITR)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
JP 61168367	A	19860730	JP 857350	A	19850121	198637 B

Priority Applications (No Type Date): JP 857350 A 19850121

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan Pg	Main IPC	Filing Notes
JP 61168367	A	6		

Abstract (Basic): JP 61168367 A

Filter for hepatitis virus removement comprises bunch of porous hollow thread membrane with entrance of stock soln. and filtrate outlet. Membrane has 5 mm or more practical thickness (pref. 10 mm or more). Blocking rate of 0.091 mm dia. polystyrene latex is 60% or more, and 0.173 mm dia. polystyrene latex is 95% or more. Permeability of bovine serum gamma-globulin is 80% or more.

Pref. membrane has 50% or more blocking rate for 0.045 mm dia. silica sol. Pref. material for membrane is polyolefin, esp. polyethylene with porosity of 40–90 vol%. Pref. polyethylene hollow thread is prep'd. by melting-spinning high-density polyethylene of melt index 1–15 and 0.955 g/cm² density at low temp. and high draft, and then extending.

USE/ADVANTAGE – Filter can remove hepatitis virus from protein soln., e.g. plasma, easily, also from soln. under detection limit of Hbs antigen without any change of soln. compsn. Filter can be inserted in fresh-freezed plasma-supplying pathway of plasma exchange system. Since smallest virus, i.e. polio virus, can be removed by this filter, hepatitis virus other than A and B which cannot be checked may be removed. (6pp Dwg.No.0/4)

Title Terms: FILTER; HEPATO; VIRUS; REMOVE; COMPRISE; BUNCH; POROUS; HOLLOW ; THREAD; MEMBRANE

Derwent Class: A96; D22; P34

International Patent Class (Additional): A61M-001/34

File Segment: CPI; EngPI

⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑩ 特許出願公開

⑪ 公開特許公報 (A) 昭61-168367

⑫ Int.Cl.

A 61 M 1/34

識別記号

厅内整理番号

6675-4C

⑬ 公開 昭和61年(1986)7月30日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全 6 頁)

⑭ 発明の名称 肝炎ウイルス除去フィルター

⑮ 特願 昭60-7350

⑯ 出願 昭60(1985)1月21日

⑰ 発明者 河合 厚 名古屋市東区砂田橋四丁目1番60号 三菱レイヨン株式会社内

⑰ 発明者 沢田 洋介 名古屋市東区砂田橋四丁目1番60号 三菱レイヨン株式会社内

⑰ 発明者 藤井 礼子 名古屋市東区砂田橋四丁目1番60号 三菱レイヨン株式会社内

⑯ 出願人 三菱レイヨン株式会社 東京都中央区京橋二丁目3番19号

⑯ 代理人 弁理士 青木 朗 外4名

明細書

1. 発明の名称

肝炎ウイルス除去フィルター

2. 特許請求の範囲

1. 多孔質中空糸膜からなる束の端部を、各多孔質中空糸膜の両端を開口した状態として、接着して形成した1個または2個の開口接着端部で区画されており、かつ原液の入口および濾液の出口を有するフィルターであって、多孔質中空糸膜が、 $5 \mu\text{m}$ 以上の実効膜厚を有し、粒径0.091 μm のポリスチレンラテックスの阻止率60%以上、粒径0.173 μm のポリスチレンラテックスの阻止率95%以上で、かつウシ血清アーロブリンの透過率80%以上であることを特徴とする肝炎ウイルス除去フィルター。

2. 多孔質中空糸膜が粒径0.045 μm のシリカゾルの阻止率50%以上である特許請求の範囲第1項記載の肝炎ウイルス除去フィルター。

3. 血漿交換装置において、新鮮凍結血漿供給経路に挿入された特許請求の範囲第1項記載の肝

炎ウイルス除去フィルター。

3. 発明の詳細な説明

〔技術分野〕

本発明は血漿タンパク質等のタンパク質溶液から肝炎ウイルスを除去するフィルターに関する。

〔従来技術〕

ウイルス感染の危険等を防止する目的を以って血漿タンパクその他のタンパク質溶液から有害な肝炎ウイルスを除去することが強く望まれているが、従来、満足すべき除去方法は知られていない。例えば、いわゆる精密濾過膜は血漿タンパクを透過するが、粒子径の小さいウイルスも透過するため、血漿中のウイルスの除去に利用することはできない。

また、いわゆる限外濾過膜はウイルスを阻止できるものがあるが、血漿タンパク質透過は不十分であり、膜を用いて血漿中のウイルスを除去する方法は、ウイルスの阻止と血漿タンパク質の透過とが両立しないので、血清肝炎の防止の立場から極めてニーズが高いにもかかわらず未だ成功した

特開昭61-168367(2)

例を見ない。

また、血漿または血清中のB型肝炎ウィルスを除去するため、抗HBs抗体を固定したカラムに血漿等を通過せしめることにより、ウイルスを選択的に吸着除去する方法が研究されている（大城孟他、人工臓器12 108 (1983)）、しかし実用化にはなお多くの問題がある。しかも、このカラムでB型肝炎ウィルス以外のウイルスを除去することはできない。

〔問題点〕

血漿等のタンパク質溶液から、その組成を殆ど変えることなく肝炎ウィルスを簡単に除去できるフィルターを提供することである。

〔解決手段〕

上記問題点は、多数の多孔質中空糸膜からなる束の端部を、各多孔質中空糸膜の両端を開口した状態として、接着して形成した1個または2個の開口接着端部で区画されており、かつ原液の入口および滤液の出口を有するフィルターであって、多孔質中空糸膜が、5μm以上の大効膜厚を有し、

また中空糸膜のウシ血清アグロブリン透過率（測定法は後記）が80%未満の場合は血漿等のタンパク質の損失が大となり、発明の目的を達成することができない。

さらに、中空糸膜は粒径0.045μmのシリカゲルの阻止率50%以上であることが好ましい。この阻止機能によって肝炎ウィルスの除去率を一段と高めることができる。

血清肝炎ウィルスとしてはB型肝炎ウィルス（デーン粒子）および非A非B型肝炎ウィルスが知られている。このうちB型肝炎については最低感染閾値は $10^3 \sim 10^4$ ウィルス数/mL程度といわれる。したがって本発明のフィルターによるB型肝炎ウィルスの除去率は99.9%以上、望ましくは99.99%以上であれば感染の危険性は著しく減少する。

従来多孔質膜による肝炎ウィルスの除去は全く不可能とされていたが、本発明によりウィルスの除去とタンパク質の透過との両立に成功したことには画期的である。

粒径0.091μmのポリスチレンラテックスの阻止率60%以上、粒径0.173μmのポリスチレンラテックスの阻止率95%以上で、かつウシ血清アグロブリンの透過率80%以上であることを特徴とする肝炎ウィルス除去フィルターによつて解決される。

中空糸膜の大効膜厚は5μm以上とし、10μm以上が好ましい。ここで、大効膜厚とはタンパク質の透過または阻止機能に直接関与する多孔質構造部分の膜厚を指す。すなわち、従来の限外濾過膜のような非対称構造の膜ではウイルス除去と高いタンパク透過率とを両立させることができ難いので、本発明においては、膜の厚さ方向に比較的大一の構造を有する多孔質膜を用いる。大効膜厚が5μm以下の場合は肝炎などのウイルスの阻止が不十分で本発明の目的を達成できない。

中空糸膜の上記各平均粒径のポリスチレンラテックスの阻止率（測定法は後記）が上記各百分率に満たない場合は肝炎ウィルスの除去が不十分となる。

本発明に用いる上記特性を有する多孔質膜はセルロースアセテート系、ポリメタクリル酸メチル系、ポリアクリロニトリル系、ポリスルフォン系、ポリオレフィン系などいずれの材質の膜でも使用可能であるが、なかでもポリオレフィン系の膜が好ましい。特に好ましいポリオレフィン系の膜は次の特性をもつポリエチレン膜またはポリプロピレン膜であり、ポリエチレン膜が最良である。

すなわち、特に好ましいポリオレフィン系膜は、空孔率が40～90容積%であり、膜厚が5～100μmであり、膜の微小空孔が、膜の延伸方向に配列したミクロフィブリルとこのミクロフィブリルに対してほぼ直角に連結した節部とによって形成される短冊状微小空孔が多数積層されたような形態を有し、これらの微小空孔は膜の一方の面より他方の面へ相互につながっている膜である。

空孔率が40容積%未満ではタンパク溶液を高度に透過し、かつウイルスを阻止する膜を得ることが難しく、90容積%をこえると強度が低下するという欠点を有している。膜厚が100μmを

特開昭61-168367(3)

こえても通過効果の向上ではなく、膜構造が不均質となりやすく、また単位容積中に収容できる膜面積が低下するという欠点を有している。ミクロフィブリルと節部とから形成される短冊状微小空孔が積層された形態を有する微小空孔を有する膜は膜の一方の面から他方の面に一定の孔径を有する微小空孔（貫通孔）があけられてなるいわゆるストレートボア型の膜に較べ阻止率が高く、かつ液の透過流量が大きいという特徴を有する。その機構は不明であるが、このような特徴をもつ膜は微小なウィルスを阻止し、かつアーグロブリン等のタンパクを良好に透過する。

上記ポリオレフィン多孔質の短冊状微小空孔の平均幅は0.05～0.35μmであることが望ましい。平均幅が0.05μm未満ではタンパク質の透過が不充分であり、0.35μmをこえるとウィルスの阻止が不十分となる。短冊状微小空孔の平均幅は膜表面の走査型電子顕微鏡写真から読み取ることによって決定することができ、空孔50個の幅の平均値として表わす。

通過する。滤液は2mlづつ試験管(14)に分取し、濃度25%に希釈して吸光度を測定する。阻止率は次式により計算する。

$$\text{阻止率} (\%) = \left(1 - \frac{\text{滤液の吸光度}}{\text{原液の吸光度}} \right) \times 100$$

各画分の阻止率を求め、その中の値を膜の阻止率とする。

吸光度の測定波長は、0.091μmポリスチレン(ダウケミカル社製)は280nm、0.173μmポリスチレン(ダウケミカル社製)は400μm、0.095μmシリカゾル(触媒化学㈱ Catalofo SI-45P)は250μmを用いる。

(ウシ血清アーグロブリンの透過率)

ウシ血清アーグロブリンの透過率は、中空糸膜の場合には有効長7cmの中空糸膜モジュールを使用し、膜間圧力差が50mmHgの条件で0.1%のウシ血清アーグロブリン(シグマ社製Fraction I)の生理的食塩水溶液を通過したとき、滤液中に含まれるウシ血清アーグロブリン濃度を280nmで

上述のような特に好ましい膜構造を有するポリエチレン中空糸は、例えば、次のように製造することができる。すなわち、メルトイインデックス値1～1.5で少なくとも0.955g/cm密度を有する本質的に分岐の少ない高密度ポリエチレンを中空糸製造用ノズルを用いて比較的低温で、かつ比較的高ドラフトで溶融紡糸し、得られた高配向結晶性未延伸中空糸を、必要に応じてポリマー融点以下でアニール処理を行った後、伸張率5～200%の冷延伸を行い、次いで冷延伸温度以上で1段または多段に熱延伸を行い、しかしる後必要に応じて熱セットすることにより製造する。

(ポリスチレンラテックスまたはシリカゾル粒子の阻止率)

第4図を参照して説明する。中空糸膜(4)で通過面積約70cm²のモジュール(5)を作製し、その粒子阻止率を測定する。ポリスチレンラテックスまたはシリカゾルの0.1%分散液をポンプ(13)で吸引し、中空糸膜の外側から内側に8ml/minの速度で通過し、全部で4.0mlを

の吸光度測定から求めることによって次式から計算されるものである。

$$\text{透過率} (\%) = \frac{\text{滤液中のウシ血清アーグロブリン濃度}}{\text{原液中のウシ血清アーグロブリン濃度}} \times 100$$

次に上記中空糸膜の複数本を用いてモジュールを作製する。モジュールは、第1図のように2個の開口接着端部(3)を有するものでもよいし、第2図のように1個の開口接着端部(3)を有するものでもよい。タンパク質溶液は開口(2)から入り、中空糸膜の外側から内側へ通過されて開口(1)から出るようにもよいし、開口(1)から入り中空糸膜の内側から外側へ通過されて開口(2)から出るようにもよい。

本発明の肝炎ウィルス除去フィルターを血漿輸血に用いる場合は、膜面積0.1～0.5m²の小型モジュールを用いることが望ましい。この場合モジュールの形式としては第2図のような1個の

特開昭61-168367(4)

開口接着端部(3)を有するものが簡便である。また、この場合の通過方式は開口(2)を入口とし、開口(1)を出口として、中空糸膜の外側から内側へ通過する方式がより好ましい。このようなフィルターを輸血用回路に組むことにより、血清肝炎の発生を防止することができる。

近年血漿交換治療法が自己免疫疾患、肝不全、悪性腫瘍等の治療に用いられ、成果を上げているが、その最大の問題点の一つは血清肝炎の発生である。この治療法における血球と血漿との分離はフィルターまたは遠心分離機により行われ、分離された血漿は廃棄され、補液として新鮮凍結血漿(FFP)が供給されるが、このFFPによりかなり高率な肝炎の発生をみている。最近はFFPを用いない二重通過方式も採用されているが、二重通過の有効でない疾患も多い。第3図は本発明の利用態様の1例を示したもので、動脈血供給回路(6)、静脈への返送回路(7)、ポンプ(10, 11, 12)、血漿分離フィルター(8)、FFPバッグ(9)、および肝炎ウィルス除去フ

ルで親水化した後、このモジュールの中空糸の外側へHBs抗原陽性のヒト新鮮血漿を5ml/minの流速で通し、通過した。濾液を分析した結果、アルブミンの透過率100%、ターグロブリンの透過率96%であった。また、通過前の血漿および濾液それぞれ100mlを2,000G1時間遠心し、上澄液を300,000G18時間遠心し、そのベレットを10mlの生理食塩水に溶解した。次に、アミラーゼ、リバーゼ、トリアシン、ノイラミニダーゼ、ホスフォリバーゼC、プロナーゼで処理して混在する血漿成分を分解した。次いで、Sephadex G-200を用いてゲル通過し、その第1ピークを集めた。これをショ糖密度勾配法により精製し、次いで塩化セシウム溶液中で222,000G40時間超遠心し、d=1.21(HB抗原のバンド)を取り出した。これを電子顕微鏡で観察したところ、通過前の血漿には直径2.2nmの球形粒子、2.2nm×2.0~2.30nmの管状粒子に混在して直径約4.2nmのデーン粒子の存在が認められた。これに対して通過後の血漿についてはデーン

フィルター(5)からなる。このような装置により安全な血漿交換療法の実施が可能となる。

実施例

以下、実施例について本発明を具体的に説明する。

実施例1

微小空孔が膜の内面より外面へ相互につながっており、この微小空孔が延伸方向に配列したミクロフィブリルとこのミクロフィブリルに対してほぼ直角に連結した節部とから形成される短冊状微小空孔が多数積層されたような形態を有し、空孔率6.6容積%、膜厚5.5μm、ウシ血清ターグロブリン透過率9.9%、0.091μmのポリスチレンラテックス(ダウケミカル社製)の阻止率90%、0.173μmのポリスチレンラテックスの阻止率10.0%、0.045nmのシリカゲルの阻止率5.5%のポルエチレン中空糸膜をループ状に束ね、各中空糸膜の両端が開口した状態で、端部をポリウレタン樹脂で接着し、有効長6cm、膜面積0.05m²のモジュールを作製した。エタノ-

粒の存在が認められなかった。

比較例

ポリアクリルニトリルの限外通過膜(分子量13,000、有効膜厚0.5μm、ポリスチレンラテックスの阻止率9.9%、ウシ血清ターグロブリン透過率5%)のモジュールを用いて実施例1と同様の血漿を通過したところアルブミン、ターグロブリンとともに殆ど通過せず、本発明の目的を達成することができなかった。

比較例2

プランズウイック社製メンブレンフィルター(孔径0.2μm、有効膜厚2μm、粒径0.085μmのポリスチレンラテックスの阻止率2.0%、ウシ血清ターグロブリン透過率9.9%)を用いて実施例1と同様の血漿を通過した結果、アルブミンおよびターグロブリンの透過率は9.0%以上であったが、デーン粒子を除去することはできなかった。

実施例2

空孔率6.7%、膜厚5.3μm、ウシ血清ターグ

特開昭61-168367 (5)

ロブリン透過率100%、0.091nmのポリスチレンラテックスの阻止率100%、0.173nmのラテックスの阻止率100%、かつ0.045μmのシリカゾルの阻止率90%である以外は実施例1と同様のポリスチレン中空糸膜を用い、実施例1と同様にして濾過面積0.1m²、有効長7cmのモジュールを作成し、エタノールで親水化処理を行った。

このモジュールの中空糸膜の外側へチューブポンプを用いてHBs 抗原陽性のヒト新鮮血漿を10ml/min の流速で流し、濾過した。濾過された血漿を分析した結果アルブミンの透過率は100%、r-アグロブリンの透過率は98%であった。また、濾過前後の血漿を実施例1と同様にして精製し、電子顕微鏡で調べたところ、濾過前の血漿にはデーン粒子が認められたが、濾過後の血漿には全く認められなかった。

実施例3

第3図の血漿交換治療装置において、肝炎ウィルス除去フィルターとして実施例1と同様のフィ

炎ウィルスはHBs 抗原の試験によりチェックされているが、HBs 抗原の検出限界以下のHBs 抗原陰性血液でも肝炎ウィルスは存在する可能性があり、これが輸血後B型肝炎発症の大きな原因と考えられている。本発明の肝炎除去フィルターによってこのような問題を解決し得るものと考えられる。また、現在輸血後炎で非A非B型肝炎の発症が重大な問題となっているが、非A非B型肝炎ウィルスについては未だ検査法もなく、対策も全くない状況である。本発明によれば、最小のウィルスの1つといわれるポリオウィルスの除去が可能であるので、非A非B型肝炎ウィルスの除去も可能と思われ、その意義は極めて大きい。

4. 図面の簡単な説明

第1図および第2図は本発明の肝炎ウィルス除去フィルターの実施態様の説明図であり、第3図は本発明の肝炎ウィルス除去フィルターを備えた血漿交換治療装置の系統図であり、第4図は阻止率測定のための濾液分取装置の説明図である。

1, 2…タンパク質溶液の入口または出口、3

ルター(5)を用いた。in vitro実験として開口(1)より新鮮ウシ血を供給しフィルター(8)で血球と血漿とを分離し、血漿はポンプ(11)により廃棄した。一方、肝炎ウィルスのモデルとしてSabin Type 1 ポリオウィルスワクチン株をアフリカミドリサルの正常腎の上皮性細胞を用いて増殖し、ウィルス増殖液を1000rpm 5分遠心分離し、その上澄を採取した。ウィルス原液を血清0%培地で10⁴TCID₅₀/ml になるように希釈し、これをFFPバッグ(9)に入れ、フィルター(5)を通して10ml/min の速度で濾過した。濾液50mlを集めウィルスの定量に供した。ウィルスの定量はCP Eの観察による測定法で行なった。その結果濾液のウィルス濃度は10^{1.5}TCID₅₀/ml であり、ポリオウィルスは1/10000以下に低下していることがわかった。

(発明の効果)

本発明による簡単な肝炎ウィルス除去フィルターにより、血漿等のタンパク質溶液中のB型肝炎ウィルスの除去が可能となった。輸血漿のB型肝

炎ウィルスはHBs 抗原の試験によりチェックされているが、HBs 抗原の検出限界以下のHBs 抗原陰性血液でも肝炎ウィルスは存在する可能性があり、これが輸血後B型肝炎発症の大きな原因と考えられている。本発明の肝炎除去フィルターによってこのような問題を解決し得るものと考えられる。また、現在輸血後炎で非A非B型肝炎の発症が重大な問題となっているが、非A非B型肝炎ウィルスについては未だ検査法もなく、対策も全くない状況である。本発明によれば、最小のウィルスの1つといわれるポリオウィルスの除去が可能であるので、非A非B型肝炎ウィルスの除去も可能と思われ、その意義は極めて大きい。

特許出願人

三菱レイヨン株式会社

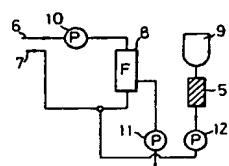
特許出願代理人

弁理士 青木 朗
弁理士 西館 和之
弁理士 寺田 豊
弁理士 山口 昭之
弁理士 西山 雅也

特開昭61-168367(6)



第3図



第4図

